ผลของส่วนประกอบบางชนิดที่ไม่ใช่เนื้อยางต่อการเกิดสีคล้ำและลักษณะการสุกของยางธรรมชาติ

นายกิตตินันท์ โกมลภิส

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.2535

ISBN 974-581-692-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018606

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

Thesis Title	Effect of some non-rubber constituents on discoloration and cure characteristic of natural rubber
By	Mr. Kittinan Komolpis
Department	Biochemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Jariya Boonjawat, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree/

Thavorn Vajrabhaya
..... Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Sanha Panichajakul
..... Chairman

(Associate Professor Sanha Panichajakul, Ph.D.)

Jariya Boonjawat
..... Thesis Advisor

(Associate Professor Jariya Boonjawat, Ph.D.)

V. Kh
..... Member

(Assistant Professor Vinich Khamviwath, M.Sc.)

Prateep Bumroongvittyapan
..... Member

(Mr. Prateep Bumrungvittyapan)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

กิตตินันท์ โกมลภิส : ผลของส่วนประกอบบางชนิดที่ไม่ใช่เนื้อยางต่อการเกิดสีคล้ำ และลักษณะการสุกของยางธรรมชาติ (EFFECT OF SOME NON-RUBBER CONSTITUENTS ON DISCOLORATION AND CURE CHARACTERISTIC OF NATURAL RUBBER) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.จริยา บุญญวัฒน์, 112 หน้า. ISBN 974-581-692-2

ในการนำน้ำยางสด (Hevea brasiliensis) มาทำเป็นยางแห้ง บางครั้งจะมีสีคล้ำ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ต้องการยางสีอ่อน วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือ การศึกษาถึงผลของสารในน้ำยางที่คาดว่าจะมีผลต่อการเกิดสีคล้ำ ได้แก่ โทโคไตรอีนอล, คาโรทีนอยด์, โพลีฟีนอล และ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ในน้ำยางสดพันธุ์ RRIM 600, GT 1 และ PB 5/51 ซึ่งเป็นพันธุ์ส่งเสริมที่ปลูกมากในประเทศไทย ผลการทดลองพบว่าในเนื้อยางแห้ง 100 กรัม ของยางทั้ง 3 พันธุ์ มีโทโคไตรอีนอลประมาณ 0.07-0.08 กรัม, โพลีฟีนอลประมาณ 0.11-0.13 กรัม และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ประมาณ 148,800-267,770 ยูนิต แต่สำหรับปริมาณของคาโรทีนอยด์พบว่า มีความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ ยางพันธุ์ PB 5/51 จะมีปริมาณมากที่สุดประมาณ 190 ไมโครกรัม รองลงมาคือ GT 1 (119 ไมโครกรัม) และ RRIM 600 (60 ไมโครกรัม) ในการศึกษาเปรียบเทียบสีและสมบัติทางฟิสิกส์ของยางที่ผ่านการสกัด และที่ผ่านการเติมสารเหล่านี้กับยางกลุ่มควบคุมพบว่า น้ำยางหลังสกัดลิปิดและโพลีฟีนอลด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์มเมทานอล จะมีดัชนีสีลดลงประมาณ 30-60% ปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อการเกิดสี คือ โพลีฟีนอลซึ่งสามารถเพิ่มดัชนีสีได้สูงถึง 43-97% เมื่อนำยางดิบไปผสมกับสารต่าง ๆ เพื่อเตรียมเป็นยางผสมสารเคมี (compound rubber) และยางวัลคาไนซ์ (vulcanized rubber) พบว่ายางที่ได้จะมีสีคล้ำขึ้น ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ยางแต่ละขั้นตอนจะมีผลต่อการเกิดสีคล้ำด้วย อย่างไรก็ตาม ปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อสีของยางทั้ง 2 ชนิดนี้ก็คือ โพลีฟีนอล ซึ่งจะทำปฏิกิริยา ที่ไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง กับสารบางชนิด เช่น โปรตีน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีคล้ำได้ ในการวัดค่าความหนืดมูนนี่ของยางที่ผ่านการสกัด เอาลิปิดและโพลีฟีนอลออกพบว่า ค่าความหนืดจะลดลง 10-30% แต่สารที่ทำให้เกิดการลดนี้ไม่ใช่สารที่คาดว่าจะมีผลต่อการเกิดสีที่วิเคราะห์ในการวิจัยนี้ ลักษณะการสุกของยางธรรมชาติและคุณสมบัติทางฟิสิกส์บางอย่าง ที่ทำการทดสอบก็ไม่ได้รับผลกระทบจากสารที่คาดว่าจะมีผลต่อการเกิดสีไม่ว่าจะเป็นการกำจัดสารออกหรือเติมสารเหล่านี้เข้าไป

ภาควิชา ชีวเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ชีวเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2534 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C225671 : MAJOR BIOCHEMISTRY
KEY WORD : NATURAL RUBBER, DISCOLORATION, CURE CHARACTERISTIC
KITTINAN KOMOLPIS : EFFECT OF SOME NON-RUBBER CONSTITUENTS ON DISCOLORATION AND CURE CHARACTERISTIC OF NATURAL RUBBER. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. JARIYA BOONJAWAT, Ph.D. 112 pp. ISBN 974-581-692-2

Procession of fresh field latex (Hevea brasiliensis) to solid rubber sometimes result in discoloration. This is an important problem in some industries which require pale color rubber as raw material. The object of this research is to investigate the factors present in field latex which should be involved in the darkening of rubber namely tocotrienols, carotenoid pigments, polyphenols and polyphenol oxidase in latex clone RRIM 600, GT 1 and PB 5/51 which are the recommended clones for growing in Thailand. The results show that 100 g of dry rubber from 3 clones tested contain 0.07-0.08 g tocotrienols, 0.11-0.13 g polyphenols and 140,800-267,770 units polyphenol oxidase. But carotenoid content vary with clone among which PB 5/51 has the highest content about 190 ug followed by GT 1 (119 ug) and RRIM 600 (60 ug) per 100 g dry wt. Comparative study on color index and physical properties of raw rubber depleted in total lipids plus polyphenols and addition of these factors individually with the control untreated rubber shows that removal of tatal lipids and polyphenols by chloroform-methanol have decreased the color index about 30-60%. The most important factor on discoloration of raw rubber is polyphenols which increase the color index ranging from 43-97%. When these raw rubber are mixed with vulcanizing ingredients to be compounded rubber and then vulcanized to be vulcanizate, the rubbers obtained exhibit higher degree of color than its original raw rubber. The processing of rubber in each step also has an effect on discoloration. However the factor which has the most remarkable effect on darkening of compound and vulcanized rubber is polyphenols which react with some substances such as proteins to give color products by non-enzymatic reaction. Mooney viscosity of raw rubber depleted in total lipids plus polyphenols decreased about 10-30% but the substances which affect this viscosity reduction are not the discolorating substances tested in this research. Cure characteristics and some physical properties tested are not affected by these discolorating factors either depletion or addition.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ชีวเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา ชีวเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2534 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deepest appreciation to my advisor, Dr. Jariya Boonjawat, for her valuable advice, encouragement, kindness and understanding throughout this thesis.

My appreciation is also expressed to Dr. Sanha Panichajakul, Mr. Vinich Khamviwath and Mr. Prateep Bumrungvittyapan for serving as thesis committee, for their constructive comments and also valuable suggestions.

I am very grateful to Dr. Krisda Suchiva for providing facilities in operating in Rheometer.

I am very grateful to Ban Pan Research Laboratory Co. Ltd. and all staff members of this company for their help and giving facilities in rubber processing and Mooney viscometer.

I am very greatful to Rubber Research Institute and all staff member of this institute for their help and giving facilities in color testing.

I would like to thank the Science Technology and Development Broad for financial support of this research.

I wish to thank all staff members of the Biochemistry for their help in the laboratory. My thank is extended to the students of the Biochemistry Department and Biotechnology Department for their sincerity and friendship.

Finally, I am most grateful to my parents and Miss Ruangrat Pavawongsak for their love, understanding and encouragement.

CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT.....iv

ENGLISH ABSTRACT.....v

ACKNOWLEDGEMENT.....vi

CONTENTS.....vii

LISTS OF TABLES..... x

LISTS OF FIGURES..... xi

ABBREVIATION.....xiii

CHAPTER

I INTRODUCTION.....1

1.1 General consideration.....1

1.2 Rubber clones recommended for planters in Thailand.....3

1.3 Composition of natural rubber latex.....4

1.4 Enzymatic discoloration.....5

1.4.1 Polyphenol oxidase.....5

1.4.2 Polyphenol.....6

1.5 Non-enzymatic discoloration.....7

1.6 Effect of some lipids on discoloration 7

1.6.1 Carotenoid pigments.....8

1.6.2 Tocotrienol.....8

1.7 Structure of natural rubber and its vulcanizate.....9

1.7.1 Molecular structure of natural rubber.....9

1.7.2 Vulcanization.....13

1.7.2.1 Sulfur vulcanization..... 13

1.7.2.2 Non-sulfur vulcanization.....14

1.8 Physical properties of natural rubber.....15

1.8.1 Mooney viscosity.....16

1.8.2 Cure characteristics.....18

1.9 Objectives.....20

II MATERIALS AND METHODS.....21

2.1 Biological materials.....21

2.2 Chemicals.....21

2.3 Solvent.....22

2.4 Instruments.....22

2.5 Preperation of fresh latex.....23

2.6 Determination of dry rubber content.....23

2.7 Preperation of air dried sheet rubber.....24

2.8 Extraction of lipids and polyphenols.....24

2.9 Separation of carotenoids and tocotrienols fraction...25

2.10 Determination of total carotenoids.....26

2.11 Determination of total tocotrienols.....26

2.12 Determination of total polyphenols.....27

2.13 Determination of polyphenol oxidase.....27

2.14 Supplementation of carotenoid, tocotrienol, polyphenol and polyphenol oxidase into rubber latex...28

2.15 Determination of physical properties of raw rubber....28

2.16 Cure characteristics of the compound rubber.....30

2.17 Testing of rubber vulcanizates.....31

III RESULTS.....35

3.1 Characterization of carotenoid pigments in fresh latex.....35

3.2 Characterization of tocotrienols in fresh latex.....38

3.3 Comparison of tocotrienols, carotenoids and polyphenols contents among rubber clones.....41
3.4 Determination of polyphenol oxidase activity.....43
3.5 The correlation between color index and these verifying indicators.....43
3.6 Effect of total lipids, tocotrienols, carotenoids, polyphenols and polyphenol oxidase on discoloration of compound and vulcanized rubber.....50
3.7 Effect of decreasing total lipids including polyphenols, and increasing tocotrienols, carotenoids, polyphenols and polyphenol oxidase on Mooney viscosity of raw rubber.....54
3.8 Effect of decreasing total lipids including polyphenols, and increasing tocotrienols, carotenoids, polyphenols and polyphenol oxidase on cure characteristics of raw rubber.....57
3.9 Effect of decreasing total lipids including polyphenols and increasing tocrteienols, carotenoids, polyphenols and polyphenol oxidase on physical properties of vulcanized rubber.....64

IV DISCUSSION.....71
V SUMMARY.....81
REFERENCE.....82
APPENDIX.....89
BIOGRAPHY.....112

LIST OF TABLES

Table Page

1.1 Total production of Thailand's rubber in 1990.....2

1.2 Types of molecular weight distribution and fraction of low molecular weight in clonal rubbers.....11

1.3 Mooney viscosity variation in natural rubber and synthetic rubber.....17

2.1 The compounding formulation chosen for assessing the cure behavior of natural rubber.....30

3.1 Comparison of total lipids, tocotrienols, carotenoids and polyphenols contents in the latex collected from different rubber clones.....42

3.2 Distribution of polyphenol oxidase activity in various fractions of fresh field latex.....44

3.3 Comparison of color index and percent difference in color index of dried rubber before and after extraction of total lipids including polyphenols, or addition of verifying indicators.....47

3.4 Comparison of color index of dried rubber before and after addition of PPO.....48

3.5 Mooney viscosity of dried rubber after various treatments and percent difference in viscosity number compound with untreated rubber.....55

3.6 Mooney viscosity of dried rubber before and after addition of PPO.....56

LIST OF FIGURES

Figure Page

1.1 Fractionation of fresh Hevea latex after ultracentrifugation....4

1.2 Types of molecular weight distribution curves of natural rubber....10

1.3 Structure of isoprene unit....12

1.4 Structure of natural rubber....12

1.5 Structural features of an accelerated sulfur vulcanization of natural rubber....14

1.6 Example of carbon - carbon crosslink of peroxidic vulcanization....15

1.7 Example of nitrone - phenyl - nitrone crosslink of urethane vulcanization....15

1.8 Rheometer curve....19

2.1 Shape of test piece for tensile strength, %elongation at break, 300% modulus and tear strength test....33

3.1 Absorption spectra of pigments eluted from silica gel column of latex lipids in hexane 36

3.2 TLC profile of carotenoid pigments eluted from silica gel column....37

3.3 Ultraviolet absorption spectra of tocotrienol fraction eluted from silica gel column of latex lipids in ethanol....39

3.4 TLC profile of tocotrienol eluted from silica gel column....40

Figure Page

3.5 Comparison of color of control raw rubber with lipids depleted rubber and enrichment of various discoloration factors.....49

3.6 Comparison of color of compound rubber.....51

3.7 Comparison of color of vulcanized rubber.....52

3.8 Effect of decreasing total lipids including polyphenols on cure charcateristics.....59

3.9 Effect of increasing tocotrienols on cure characteristics.....60

3.10 Effect of increasing carotenoids on cure characteristics.....61

3.11 Effect of increasing polyphenols on cure characteristics.....62

3.12 Effect of addition of TS buffer and polyphenol oxidase on cure characteristics.....63

3.13 Effect of decreasing total lipids including polyphenols on some physical properties of vulcanized rubber.....66

3.14 Effect of increasing tocotrienols on some physical properties of vulcanized rubber.....67

3.15 Effect of increasing carotenoids on some physical properties of vulcanized rubber.....68

3.16 Effect of increasing polyphenols on some physical properties of vulcanized rubber.....69

3.17 Effect addition of TS buffer and polyphenol oxidase on some physical properties of vulcanized rubber.....70

ABBREVIATION

C	Degree Celcius
cm	Centimetre
DRC	Dry rubber content
g	Gram
µg	Microgram
h	Hour
kg	Kilogram
m	Metre
min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimetre
mM	Millimolar
mN	MilliNewton
M	Molar
MW	Molecular weight
MWD	Molecular weight distribution
NR	Natural rubber
OD	Optical density
PPO	Polyphenol oxidase
TS	0.08 M Tris-HCl buffer in 1.0 M sucrose
S.D.	Standard deviation
V	Volume
wt	Weight